مقـــاله تحقیقی

اثر هشت هفته تمرین هوازی و مقاومتی بر بیان ژن پروتئین کیناز فعال شده توسط AMP (AMPK) در عضله نعلی و مقاومت به انسولین موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین

مجید حسن قمی[1]، سجاد ارشدی[2*]، عبدالعلی بنایی فر[3]، یاسر کاظم زاده[4]

[1] گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران، ایران

[2] استاد یارگروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران، ایران

[3] دانشیارگروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران، ایران

[4] گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اسلامشهر، اسلامشهر، ایران

* نشانی نویسنده مسئول:

دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران، ایران

نشانی الکترونیک: arshadi.sajad@yahoo.com

چکیده

زمینه: تنظیم ژن AMPK یکی از بزرگترین اهداف در مطالعات T2D و سندروم متابولیک می‌باشد. بنابراین هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر هشت هفته تمرین هوازی و مقاومتی بر بیان ژن پروتئین کیناز فعال شده توسط AMP (AMPK) در عضله نعلی و مقاومت به انسولین موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین Streptozotocin (STZ) بود.

روش کار: تحقیق حاضر از نوع تجربی بود. ۲۱ سر رت صحرایی نر نژاد ویستار با دامنه وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم و سن ۸ تا ۱۰ هفته به عنوان نمونه انتخاب شدند و با تزریق درون صفاقی محلول تازه تهیه شده STZ دیابتی شده و به طور تصادفی در سه گروه دیابت کنترل، دیابت تمرین مقاومتی و دیابت تمرین هوازی قرار داده شدند. برنامه تمرینی گروه‌های تمرینی برای ۸ هفته و ۵ روز در هفته انجام شد. پروتکل تمرین مقاومتی در قالب ۱۰ تکرار به صورت صعود از نردبان با وزنه‌ای به مقدار ۱۰۰ درصد وزن بدن و پروتکل تمرین هوازی دویدن روی نوارگردان با سرعت ۲۵ متر در دقیقه به مدت ۴۰ دقیقه بود. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، عضله نعلی رتها جدا و میزان بیان ژن AMPK نمونه‌ها سنجیده شد. تجزیه و تحلیل داده‌های آماری ازطریق آنالیز واریانس یک طرفه (One Way Anova) در سطح معناداری P<۰/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها: نتایج تحقیق حاضر نشان دادکه میزان بیان ژن پروتئین AMPK در عضله نعلی گروه تمرین هوازی و تمرین مقاومتی به طور معناداری بالاتر از گروه کنترل بود (مقادیر P به ترتیب ۰/۰۳۵ و ۰/۰۱۹). اما بین سطح این شاخص در گروه‌های تمرین هوازی و مقاومتی تفاوت معناداری مشاهده نشد (P=۰/۹۵۴). سطح گلوکز خون ناشتا در گروه‌های دیابت تمرین هوازی و دیابت تمرین مقاومتی نسبت به گروه دیابت کنترل به طور معناداری پایین‌تر بود (P=۰/۰۰۱). همچنین سطح انسولین و مقاومت به انسولین در گروه دیابت تمرین هوازی و گروه دیابت تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل به طور معناداری پایین‌تر بود (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: به طور کلی، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که هم تمرین هوازی و هم تمرین مقاومتی از طریق افزایش سطح AMPK، موجب کاهش مقاومت به انسولین و در نتیجه بهبود سطح گلوکز خون در موش‌های صحرایی دیابتی می‌گردند. بر این اساس میتوان گفت که تمرین هوازی و مقاومتی باعث فعال سازی مسیر غیر وابسته به انسولین شده و بهبودی در مقاومت به انسولین در رتهای دیابتی را به همراه دارد.

کلمات کلیدی: دیابت نوع ۲، مقاومت به انسولین، بیان ژن AMPK، عضله نعلی، تمرین مقاومتی و هوازی

[Downloaded from jmciri.ir on 2024-04-19]

مقدمه

همگام با کاهش روز افزون سطح تحرک در جوامع بشری، شیوع بیماری‌های مزمن جسمی و روانی مربوط به شیوه زندگی رو به افزایش است. چاقی، مقاومت به انسولین (IR[1])، کاهش حساسیت گیرنده‌های انسولینی و سندرم متابولیک که از مهمترین اجزای بیماری دیابت محسوب می‌شوند، از جمله عواقب زندگی کم تحرک و عدم فعالیت جسمانی می‌باشد(۳-۱). بیماری دیابت که با افزایش مزمن گلوکز خون شناسایی می‌شود، به دلیل نقص در ترشح انسولین [دیابت نوع ۱(T1D[2])] و یا نقص فعالیت انسولین [دیابت نوع ۲(T2D[3])]، به وجود می‌آید. بیش از ۹۰ درصد جمعیت دیابتی‌ها را مبتلایان به نوع دوم تشکیل می‌دهند (۲و۱). اگرچه در حال حاضر چندین روش برای کنترل و مدیریت T2D وجود دارد، ولی نیاز به کنترل مؤثرتر بیماری نسبت به روش‌های موجود، رو به افزایش است (۳).

مسیرهای بیولوژیکی که در حفظ هموستاز انرژی درگیر می‌باشند، برای درمان‌های دارویی و مبارزه با مقاومت به انسولین و اختلالات متابولیکی که متعاقب مصرف بیش از حد مواد غذایی و چاقی ایجاد می‌شود، هدف گذاری شده‌اند (۴). یکی از مسیرهای بیولوژیک، پروتئین کیناز فعال شده توسط AMP (AMPK[4]) می‌باشد که به عنوان یک آنزیم کلیدی در تنظیم متابولیسم شناخته می‌شود (۵و۴). آنزیم سرین/ترئونین کیناز زمانی که سطح انرژی سلولی پایین (بالا بودن نسبت AMP درون سلولی به ATP) باشد، فعال می‌شود. در شرایط فعال‌سازی AMPK، سیگنال‌هایی برای بازسازی سطح انرژی طبیعی از جمله مسیرهای بازتولید ATP (مثل تجزیه اسیدهای چرب آزاد FFA[5]) و مهار استفاده از ATP (مثل سنتز تری گلیسرید و پروتئین) ارسال می‌شود (۶). فعال‌سازی AMPK اثرات متفاوتی در بافت‌های مختلف دارد بطوریکه در عضلات اسکلتی باعث تحریک برداشت گلوکز، اکسیداسیون FFA، جابجایی و فعال‌سازی انتقال‌دهنده گلوکز نوع ۴ (GLUT4[6]) و بیوژنز میتوکندریایی می‌شود و مهار سنتز پروتئین و گلیکوژن را در پی دارد (۷). در عضله قلب، فعال‌سازی AMPK به طور مشابه، برداشت گلوکز، اکسیداسیون FFA و گلیکولیز را تحریک می‌کند(۸). AMPK باعث فعال‌سازی برداشت گلوکز شده و همچنین اکسیداسیون FFA در کبد را تحریک می‌کند، در حالی که در این بافت باعث مهار گلوکونئوژنز و سنتز کلسترول، FFA و پروتئین می‌شود (۶). در بافت چربی، این عامل اکسیداسیون FFA را تحریک و سنتز FFA و لیپولیز را مهار می‌کند (۷). AMPK ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراس را مهار می‌کند (۷) و سیگنال‌هایی را برای افزایش دریافت غذا به هیپوتالاموس ارسال می‌کند (۹).

۱. insulin resistance
۲. Type 1 diabetes
۳. Type 2 diabetes
۴. AMP-activated protein kinase
۵. Fatty free acid
۶. Glucose transporter type 4

تنظیم AMPK یکی از بزرگترین هدف‌ها در مطالعات T2D و سندروم متابولیک می‌باشد، زیرا شواهد روز افزونی پیشنهاد می‌دهند که اختلال در تنظیم AMPK نقش مهمی در توسعه مقاومت به انسولین و T2D بازی می‌کند و فعال‌سازی AMPK (چه از طریق دارویی و چه فیزیولوژیکی) می‌تواند از مقاومت به انسولین و T2D جلوگیری کند(۶). کاهش فعالیت AMPK در عضلات اسکلتی در چند مدل حیوانی دچار اختلالات متابولیک، نشان داده شده است(۴). از طرفی شواهدی وجود دارد که فعالیت AMPK در عضلات اسکلتی و بافت چربی نمونه‌های انسانی چاق و دیابتی کاهش می‌یابد (۱۲-۱۰).

در سالهای اخیر توجه خاصی از جانب عامه مردم به برنامه‌های کاهش وزن و نیز رژیم‌های غذایی برای حفظ اندام معطوف شده است. از مدت‌ها قبل، تمرینات ورزشی به عنوان شکلی از کنترل بیماری افراد مبتلا به T2D رواج پیدا کرده‌اند. مطالعات اخیر چنین مطرح نموده‌اندکه با استفاده از رژیم غذایی و برنامه‌های ورزشی، میزان گلوکز خون و متابولیسم انسولین به حد تقریباً طبیعی می‌رسند. یک برنامه ورزشی، هایپرانسولینی[7] تحریک شده با افزایش گلوکز را کاهش می‌دهد. برخی از این نتایج حتی بدون کاهش وزن به دست آمده‌اند. برای این که ورزش نقش محسوسی در کنترل دیابت ایفا نماید، باید به صورت مکرر حداقل سه روز در هفته و به صورت ایده‌آل به‌طور روزانه انجام شود (۱۳). معمولاً استفاده از تمرینات هوازی جهت پیشگیری و کنترل بیماری دیابت توصیه شده است. با توجه به نقش تأثیر گذار ورزش در مدیریت T2D و همچنین نقش کلیدی درمانی AMPK در این بیماری، مطالعات محدودی در این زمینه صورت گرفته و نتایج متناقضی به دست آمده است. برای مثال موسی[8] و همکاران در تحقیق خود به بررسی نقش تمرین هوازی روی دوچرخه کارسنج بر AMPK عضلانی بیماران T2D پرداختند و عنوان داشتند که AMPK در طول ورزش در عضلات بیماران دیابتی نوع ۲ فعال می‌گردد و پیشنهاد کردند که فعال کردن AMPK در بیماران دیابتی به هر وسیله‌ای حتی دارو، می‌تواند در درمان موثر باشد (۱۴). همچنین چن[9] و همکاران در بررسی اثر شدت فعالیت ورزشی روی پیام دهی AMPK در عضلات اسکلتی انسان، نشان دادند که نسبت AMP/ATP (محرک افزایش فعالیت AMPK) فقط در دو شدت بالا افزایش می‌یابد. میزان فعالیت AMPK آلفا ۱ و ۲ به ترتیب ۵/۱ و ۵ برابر از شدت پایین تا متوسط افزایش پیدا کرد، این در حالی بود که آلفا ۲ در شدت بالا افزایش بیشتری پیدا کرد (۱۵). در حالی که نتایج تحقیق مک‌گی[10] و همکاران نشان داد که محتوای AMPK mRNA هسته‌ای کلی عضلات در نمونه‌های انسانی T2D در اثر تمرین ورزشی هوازی حاد تغییری نکرد (۱۶).

۷. Hyperinsulinism
۸. Musi
۹. Chen
۱۰. McGee

[Downloaded from jmciri.ir on 2024-04-19]

در این راستا نتایج تحقیق تاکه کوشی[11] و همکاران نشان داد که تمرین طولانی مدت ۱۲ هفته‌ای روی نوار گردان با شدت پایین، تاثیری بر سطوح mRNA AMPK در رت‌های T2D ندارد (۱۷). کائو[12] و همکاران در بررسی نقش فعالیت ورزشی روی پیام‌دهی AMPK، بیان داشتند که تمرین‌های حاد و مزمن هر دو، موجب فسفوریلاسیون و بیان AMPK و واکنش‌های بعد از آن تا PI3K در رت‌های دیابتی می‌گردد (۱۸).

براساس پژوهش های به عمل آمده، مطالعات متعددی به بررسی تاثیر تمرینات ورزشی بر شاخص‌های درگیر در جذب گلوکز پرداخته‌اند. بیشتر مطالعات به بررسی اثر تمرینات هوازی تداومی بر روی این شاخص‌ها متمرکز شده‌اند، بنابراین مطالعه یک نوع فعالیت بدنی جایگزین با سازگاری‌های متابولیکی مشابه و بدون تعهد زمانی قابل ملاحظه، مورد نیاز است. اخیرا تمرینات مقاومتی به عنوان ابزار در جهت کنترل و مدیریت بیماری موثر در بسیاری از بیماری‌های مزمن از جمله دیابت نوع ۲ مطرح شده‌اند. بر طبق گزارش‌های موجود، این تمرینات، مشابه تمرینات هوازی در افزایش حساسیت گیرنده‌ها به انسولین، میزان انرژی مصرفی روزانه، خودکفایی بیمار و کیفیت زندگی موثرند (۱۹). تمرینات مقاومتی، پتانسیل افزایش قدرت عضلانی، توده بدون چربی، تراکم مواد معدنی استخوان و کاهش علایم مفصلی را نیز دارد که می‌تواند بهبود نسبتاً سریع وضعیت عملکردی بیمار را به دنبال داشته باشد(۲۰). مطالعه حاضر، با توجه به ناهمسو بودن پیشینه پژوهش‌ها در خصوص تمرینات هوازی و همچنین محدودیت پیشینه پژوهش در زمینه تأثیر تمرین مقاومتی بر بیان AMPK و حساسیت به انسولین در عضله نعلی موش‌های صحرایی دیابتی، جهت پاسخگویی به این سؤال‌ها که آیا تمرینات هوازی و مقاومتی تأثیری بر شاخص‌های فوق دارد، طراحی شده است. در این مطالعه به بررسی تأثیر تمرینات طولانی مدت هوازی و مقاومتی بر بیان AMPK در عضله نعلی و مقاومت به انسولین در موش‌های صحرایی نر ویستار T2D پرداخته شده است.

روش کار

پژوهش حاضر از نوع تجربی است که به شیوه‌ی آزمایشگاهی (کد اخلاق: IR.SSRC.REC.۱۳۹۷.۰۰۷) انجام شد. در این تحقیق از ۲۱ سر رت صحرایی نر نژاد ویستار بالغ با دامنه وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم و سن ۸ تا ۱۰ هفته استفاده شد که از دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله تهیه گردیدند. غذای مصرفی رت‌ها از شرکت خوراک دام به صورت پلت تهیه شد و در طول مطالعه به صورت آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. رت‌ها در آزمایشگاه حیوانات در اطاقی به ابعاد ۱/۶۰ در ۲/۲۰ متر در شرایط نور کنترل شده (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی ۶ صبح و شروع خاموشی ۶ عصر) دما (۳±۲۲ سانتی گراد) و رطوبت (حدود ۴۵ درصد) نگهداری شدند. پس از یک هفته آشنایی، موش‌های صحرایی به طور تصادفی و بر اساس وزن در سه گروه دیابت تمرین مقاومتی، دیابت تمرین هوازی و کنترل قرار داده شدند.

- نحوه القای دیابت

پس از یک شب ناشتایی، برای القای دیابت نوع ۲، ابتدا محلول نیکوتین آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن رت، به صورت صفاقی تزریق شد؛ پس از ۱۵ دقیقه، محلول تازه تهیه شده STZ در بافر سیترات با pH=۴/۵ نیز به صورت داخل صفاقی با دوز ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم تزریق گردید (۲۱). یک هفته پس از القای دیابت، گلوکز خون ناشتا اندازه‌گیری و قند خون بین ۱۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر به عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای موش‌های صحرایی به دیابت نوع ۲ در نظر گرفته شد.

- پروتکل تمرین مقاومتی

طول دوره تمرین ۸ هفته و تعداد جلسات تمرین در هفته ۵ نوبت بود. تمرینات مقاومتی در هر جلسه در قالب ۱۰ تکرار با فواصل استراحتی ۹۰ ثانیه‌ای به صورت صعود از نردبان ۲۶ پله‌ای به ارتفاع یک متر با شیب عمودی ۸۵ درصد بود. اعمال مقاومت به صورت قرار دادن وزنه به قاعده دم رت بود. در این پروتکل پس از یک هفته آشنایی، با استفاده از نردبان با وزنه ۳۰ درصد از وزنشان شروع شد و در ادامه، اعمال مقاومت در هفته هشتم به ۱۰۰ درصد وزن بدن رسید (۲۲).

- پروتکل تمرین هوازی

مجموع دوره تمرین هوازی به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته و در ۳ مرحله‌ی آشنایی، اضافه بار و تثبیت بار اجرا شد. در مرحله‌ی آشنایی (هفته اول)، رت‌ها برای ۳ روز متناوب، هر روز به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه با سرعت ۱۵ متر در دقیقه با شیب صفر، (تقریباً ۴۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) روی نوارگردان تمرین کردند. در مرحله‌ی اضافه بار (هفته دوم و سوم)، بعد از یک روز استراحت، تمرین استقامتی با سرعت ۱۸ متر در دقیقه و مدت ۲۰ دقیقه با شیب صفر آغاز شد و به تدریج در طی ۲ هفته، به شدت و مدت فعالیت افزوده شد؛ تا به میزان نهایی ۴۰ دقیقه با سرعت ۲۵ متر در دقیقه رسید. در مرحله‌ی حفظ یا تثبیت (هفته چهارم تا هشتم)، تمرین با همین شدت ادامه یافت تا ۸ هفته به پایان رسید. بر اساس تحقیق بدفورد و همکاران، این شدت معادل ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی رت‌ها می‌باشد (۲۳). تمامی رت‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۴ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم)

۱۱. Takekoshi
۱۲. Cao

[Downloaded from jmciri.ir on 2024-04-19]

بی‌هوش شدند. سپس توسط متخصصین کارآزموده، جراحی انجام و عضله نعلی آن‌ها استخراج شد. بعد از استخراج، بافت با استفاده از محلول PBS شستشو داده شد و بلافاصله در نیتروژن مایع قرار داده شده و برای بررسی های بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

- استخراج RNA

برای استخراج RNA از بافت هموژن شده، ۱ میلی‌لیتر ترایزول به ۱۰۰ میلی گرم بافت عضله اضافه و پس از مخلوط کردن کامل به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. ۴۰۰ میکرولیتر کلروفرم سرد به نمونه اضافه و به مدت ۱۵ ثانیه مخلوط شدند. محلول در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. مایع حاوی RNA به میکروتیوب دیگری منتقل و سپس ۵۰۰ میکرولیتر اتانول به محلول اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰- نگهداری شد. پس از ۲۴ ساعت این محلول نیز به مدت ۱۵ دقیقه (دمای ۴ درجه سانتی گراد، ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه) سانتریفوژ شد. مایع رویی با دقت خارج گردید و ۱ میلی لیتر اتانول خالص سرد به رسوب RNA اضافه شد و سپس به مدت ۵ دقیقه (در دمای ۴ درجه با ۷۵۰۰ دور در دقیقه) سانتریفوژ شد. در ادامه مایع رویی به دقت خارج شد و رسوب RNA با ۱۰۰ میکرولیتر ایلوشن بافر رقیق شد. در پایان غلظت و نسبت جذبی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ارزیابی شد که نسبت جذبی ۲۸۰/۲۶۰ نانومتر برای تمام نمونه‌ها بین ۶/۱ تا ۸/۱ بود. نمونه‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد برای آزمایش‌های بعدی ذخیره شدند.

پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بالا، مراحل سنتز cDNA مطابق پروتکل شرکت سازنده انجام شد. ابتدا RNA، پرایمر و آب با هم ترکیب شدند و محلول به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد انکوبه شد، سپس محلول به مدت ۲ دقیقه روی یخ قرار گرفت. پس از آن آنزیم میکس و ری اکشن میکس به محلول اضافه شدند و محلول در ۳ مرحله متوالی انکوبه شد: مرحله اول، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد؛ مرحله دوم به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد و مرحله سوم به مدت ۵ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی گراد انجام گردید و در نهایت cDNA سنتز شده در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد ذخیره شد.

جهت اندازه گیری سطوح بیان mRNA از روش کمی Real time PCR استفاده شد. هر واکنش PCR با استفاده از دستگاه کروموو ترکیب تشخیصی SYBER Green در دستگاه ریل تایم PCR طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. ۴۰ سیکل برای هر چرخه PCR در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل ۹۴ درجه سانتیگراد برای ۲۰ ثانیه، ۵۸ تا ۶۰ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه تنظیم شدند. نمودار melting جهت بررسی صحت واکنش‌های PCR انجام شده و به صورت اختصاصی برای هر ژن و در هر بار واکنش به همراه نمودار کنترل منفی جهت بررسی آلودگی واکنش مورد ارزیابی قرار گرفت.

غلظت گلوکز به روش آنزیمی رنگ سنجی با روش گلوکز اکسیداز و با استفاده از کیت گلوکز شرکت پارس آزمون تهران اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات درون آزمون و برون آزمون گلوکز به ترتیب ۱/۷۴ و ۱/۱۹ درصد و حساسیت اندازه گیری ۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. برای اندازه‌گیری انسولین سرم از کیت آزمایشگاهی دیمدتیک (ساخت کشور آلمان) به روش الیزا استفاده گردید. ضریب تغییرات درون گروهی و برون گروهی و میزان حساسیت اندازه‌گیری انسولین به ترتیب ۲/۶ و ۲/۸۸ درصد و ۱/۷۶ (واحد بین‌المللی) بود.

به منظور بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون Shapiro - Wilk test استفاده شد. پس از مشخص شدن طبیعی بودن توزیع داده‌ها، به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و مقایسه بین گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی و برای بررسی روابط بین متغیرها از آزمون ضریب همبستگی پیرسون با سطح معناداری P< ۰/۰۵ استفاده شد. تمام محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ صورت گرفت.

یافته‌ها

در جدول ۱ مقایسه‌ی میانگین وزن رت‌ها قبل و بعد از ۸ هفته تمرین هوازی و مقاومتی در گروه‌های مطالعه ارائه شده است.

جدول ۱ مقادیر وزن رت ها قبل و بعد از ۸ هفته تمرین (انحراف معیار ± میانگین)

شاخص		پیش آزمون (تعداد: ۷ سر)	پس آزمون (تعداد: ۷ سر)
وزن (گرم)	کنترل	۲۳۰/۴۳ ±۲/۸۲	۲۶۵/۱۴ ±۸/۱۷
	تمرین هوازی	۲۳۰/۸۶ ±۲/۴۷	۲۸۴/۸۶ ±۱۰/۷۷
	تمرین مقاومتی	۲۳۱/۷۱ ±۳/۸۶	۲۶۱/۷۱ ± ۷/۲۲

لازم به توضیح است که بین وزن موش‌های صحرایی در گروه دیابت کنترل و تمرین در مرحله پیش آزمون، تفاوت معناداری وجود نداشت (P=۰/۷۳۷). اما وزن رت‌ها در مرحله پس آزمون در گروه دیابت تمرین هوازی به طور معناداری نسبت به گروه تمرین مقاومتی و کنترل به طور معناداری بالاتر بود (مقادیر P به ترتیب ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۲).

در جدول ۲ نیز مقایسه میانگین و انحراف معیار و همچنین یافته‌های آزمون آماری در خصوص اثر تمرین هوازی و مقاومتی بر بیان ژن AMPK در عضله نعلی و سطح گلوکز، انسولین و مقاومت به انسولین در گروه‌های تحقیق ارائه شده است.

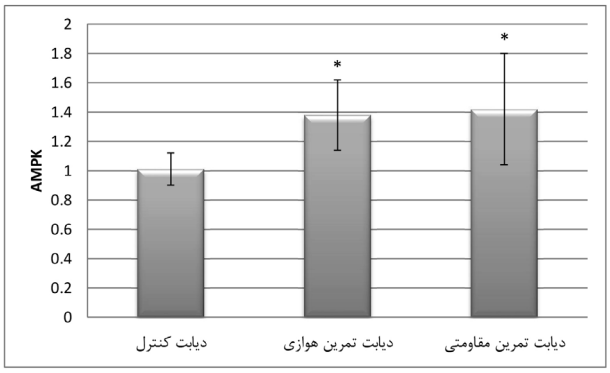
[Downloaded from jmciri.ir on 2024-04-19]

جدول ۲ مقایسه‌ی سطوح شاخص‌های تحقیق (انحراف معیار ±میانگین) در گروه‌های تحقیق و یافته‌های آزمون آماری

گروه ها / شاخص	دیابت کنترل	دیابت تمرین هوازی	دیابت تمرین مقاومتی	مقدار †F	مقدار ‡P
AMPK (نانوگرم/میلی گرم پروتئین)	۱/۰۱±۰/۱۱	۱/۳۸±۰/۲۴	۱/۴۲±۰/۳۸	۵/۵۵	*۰/۰۱۳
گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)	۳۲۶/۰۱±۹/۷۹	۲۷۲/۴۳±۷/۷۸	۲۳۰/۸۶±۹/۱۵	۱۹۸/۷۱۱	*۰/۰۰۱
انسولین (میکروواحد بر دسی لیتر)	۶/۵۴±۰/۶۹	۵/۷۲±۰/۵۲	۵/۴۱±۰/۵۲	۶/۸۵	*۰/۰۰۶
مقاومت به انسولین	۵/۲۶±۰/۵۵	۳/۸۵±۰/۳۹	۳/۰۹±۰/۳۸	۴۱/۸۲۸	*۰/۰۰۱

† آماره‌ی آزمون، ‡ مقدار P و * وجود تفاوت معنادار بین گروه‌های تحقیق در P<۰/۰۵.

بر اساس یافته‌های موجود در جدول ۲، بین میانگین بیان ژن پروتئین AMPK عضله نعلی رت‌ها در گروه‌های تحقیق، تفاوت معناداری وجود دارد (P=۰/۰۱۳). نتایج آزمون تعقیبی توکی (شکل ۱) برای مقایسه جفتی گروه‌های تحقیق نشان داد که میزان بیان ژن پروتئین AMPK در عضله نعلی گروه تمرین هوازی و تمرین مقاومتی به طور معناداری بالاتر از گروه کنترل بود (مقادیر P به ترتیب ۰/۰۳۵ و ۰/۰۱۹). اما بین سطح این شاخص در گروه‌های تمرین هوازی و مقاومتی تفاوت معناداری مشاهده نشد (P=۰/۹۵۴).



شکل ۱: مقایسه سطح بیان ژن AMPK عضله نعلی گروه‌های تحقیق متعاقب ۸ هفته تمرین هوازی و مقاومتی.

* نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه دیابت کنترل.

از طرفی نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطح گلوکز خون ناشتا در گروه‌های دیابت تمرین هوازی و دیابت تمرین مقاومتی نسبت به گروه دیابت کنترل و همچنین در گروه دیابت تمرین مقاومتی نسبت به دیابت تمرین هوازی به طور معناداری پایین‌تر بود (P=۰/۰۰۱). همچنین سطح انسولین و مقاومت به انسولین در گروه دیابت تمرین هوازی و گروه دیابت تمرین مقاومتی نسبت به گروه کنترل به طور معناداری پایین‌تر بود (P<۰/۰۵). اما بین سطح انسولین در گروه دیابت تمرین هوازی و دیابت تمرین مقاومتی تفاوت معناداری مشاهده نشد (P=۰/۵۸۷). اما مقاومت به انسولین در گروه دیابت تمرین مقاومتی نسبت به گروه دیابت تمرین هوازی به طور معناداری پایین تر بود (P=۰/۰۱۴).

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میانگین بیان ژن پروتئین AMPK عضله نعلی رت‌ها در گروه دیابت تمرین مقاومتی و دیابت تمرین هوازی نسبت به گروه کنترل به طور معناداری بالاتر بود. همچنین سطح گلوکز، انسولین و مقاومت به انسولین در گروه‌های دیابت تمرین مقاومتی و دیابت تمرین هوازی نسبت به گروه کنترل به طور معناداری پایین تر بود.

AMPK یک حسگر انرژی درون سلولی و یک تنظیم کننده هموستاز متابولیک است. اعتقاد بر این است که فعالیت AMPK می‌تواند اثرات درمانی مطلوبی بر درمان سندرم متابولیک و T2D داشته باشد، با این حال عامل اصلی فعالیت AMPK (به جز پروتئین A769662)، به خوبی شناخته نشده است. از طرف دیگر، تعدادی از ریز مولکول‌هایی که به طور مستقیم AMPK را فعال می‌کنند، شناسایی شده‌اند؛ و این در حالی است که مکانیزم فعال کنندگی آن‌ها مشخص نیست. بعضی از این ریز مولکول‌ها، ترکیب ۲ (C2[۱۳]) و پیش داروی آن (C13) میباشند. نتایج تحقیقی نشان از آن دارند که C2 فعالیت AMPK را حداقل ۲۰ برابر پروتئین A769662 افزایش میدهد. C2 از دو طریق، یکی تحریک AMPK و دیگری از طریق فعالیت آلوستریک و مهار دفسفریلاسیون AMPK؛ فعالیت آن را افزایش می‌دهد. به طور خلاصه، شناخت ریز مولکول‌هایی که موجب فعال شدن AMPK میگردند، باعث تسهیل در طراحی و ساخت فعال کننده‌های جدید AMPK میگردند، روندی که می‌تواند در درمان سندرم متابولیک و T2D موثر باشد (۲۴). اگرچه سطوح AMPK پس از ابتلا به دیابت کاهش می‌یابد، ولی در تحقیق حاضر

۱۳. Furan-2-phosphonic acid (Compound 2)

[Downloaded from jmciri.ir on 2024-04-19]

مشخص شد که تمرینات ورزشی هوازی و مقاومتی، از کاهش سطوح AMPK در عضله کند انقباض نعلی جلوگیری می‌کنند.
نتایج مطالعه حاضر همسو با مطالعات کائو و همکاران است که ضمن بررسی نقش فعالیت ورزشی روی پیامدهی AMPK و وقایع بعد از آن تا PI3K در رت‌های T2D، به این نتیجه رسیدند که هم تمرین حاد و هم تمرین مزمن، موجب فسفوریلاسیون و بیان AMPK و واکنش‌های بعد از آن تا PI3K در رت‌های دیابتی می‌گردند (۱۸). موسی و همکاران در تحقیق خود با عنوان AMPK در طول ورزش در عضلات بیماران T2D فعال می‌گردد، نشان داده‌اند که سطح گلوکز خون بیماران دیابتی در اثر ورزش از ۶۰/۷ به ۷۷/۴ میلی‌مول در لیتر کاهش می‌یابد، در صورتی که در این زمان تغییری در گلوکز خون گروه کنترل ایجاد نمی‌شود. علاوه بر آن، فعالیت AMPK نیز به طور معنی‌داری (۷/۲ برابر) در هر دو گروه افزایش یافت. محققین پیشنهاد کردند که فعال کردن AMPK در بیماران دیابتی به هر وسیله‌ای حتی دارو، می‌تواند در درمان موثر باشد (۱۴). Sriwijiikamol و همکاران ضمن بررسی اثر تمرین حاد بر پیام دهی AMPK در عضلات اسکلتی T2D، نشان داده‌اند که فعالیت AMPK و پروتئین AS160 تحت تأثیر شدت و مدت فعالیت افزایش می‌یابد (۲۵). نتایج تحقیق مک‌گی و همکاران نشان داد که محتوای AMPK mRNA هسته‌ای کلی عضلات در نمونه‌های انسانی T2D در اثر تمرین ورزشی هوازی حاد تغییری نکرد که با یافته‌های مطالعه حاضر همراستا نمی‌باشد. (۱۶). در این راستا نتایج تحقیق تاکه کوشی و همکاران نشان داد که تمرین طولانی مدت ۱۲ هفته‌ای روی نوار گردان با شدت پایین، تاثیری بر سطوح AMPK mRNA در رت‌های T2D ندارد (۱۷).
ورزش و فعالیت بدنی موجب افزایش انقباض عضلانی و در نتیجه، مصرف ATP می‌گردد و مصرف ATP در عضلات، خود کاهش نسبت ATP/AMP و افزایش فعالیت AMPK را به دنبال دارد. نتیجه این واکنش‌ها، افزایش جابجایی GLUT4 از درون سلول به سطح غشاء است. آنزیم هتروتریمریک AMPK در عضلات، از طریق افزایش جابجایی و بیان GLUT4، به بهبود برداشت گلوکز کمک می‌کند. به علاوه، AMPK با مهار گلوکز تولیدی توسط کبد و افزایش گلوکز مصرفی توسط عضلات، سطوح افزایش‌یافته گلوکز را در بیماران دیابتی کاهش می‌دهد. فعالیت ورزشی باعث کاهش گلوکز خون، افزایش فسفوریلاسیون و بیان AMPK، کاهش دفسفوریلاسیون سوبسترای AMPK و استیل کوآ کربوکسیلاز (ACC[۱۴]) می‌گردد. تمرین مزمن موجب تنظیم مثبت[۱۵] فسفوریلاسیون و بیان واکنش‌های قبل از AMPK و LKB1 می‌شود. علاوه بر آن، نتایج نشان داده‌اند که تمرین موجب افزایش پروتئین کینازهای C و B و بیان GLUT4 میگردد. یافته‌های دیگر نشان از آن دارند که هم تمرین حاد و هم تمرین مزمن، فسفوریلاسیون و بیان AMPK را افزایش می‌دهند (۲۶).

نتیجه‌گیری

به طور کلی، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که هم تمرین هوازی و هم تمرین مقاومتی از طریق افزایش سطح AMPK، موجب کاهش مقاومت به انسولین و در نتیجه بهبود سطح گلوکز خون در رتهای دیابتی می‌گردند. بر این اساس می‌توان گفت که تمرین هوازی و مقاومتی باعث فعال سازی مسیر غیر وابسته به انسولین شده و بهبودی در مقاومت به انسولین در رت‌های دیابتی را به همراه دارد.

منابع

1. Halabchi F, Hasbi M, Mazaheri R, Angorani H. The sport and the diseases. Tehran University of Medical Sciences. 2005;3:8-15.

2. Hu G, Rico-Sanz J, Lakka TA, Tuomilehto J. Exercise, genetics and prevention of type 2 diabetes. Essays Biochem. 2006;42:177-92.

3. Federation ID. IDF diabetes atlas. Brussels: International Diabetes Federation. 2013.

4. Ruderman N, Prentki M. AMP kinase and malonyl-CoA: targets for therapy of the metabolic syndrome. Nat Rev Drug Discov. 2004;3(4):340-51.

5. Coughlan KA, Valentine RJ, Ruderman NB, Saha AK. AMPK activation: a therapeutic target for type 2 diabetes? Diabetes Metab Syndr Obes. 2014;7:241-53.

6. Ruderman NB, Carling D, Prentki M, Cacicedo JM. AMPK, insulin resistance, and the metabolic syndrome. J Clin Invest. 2013;123(7):2764-72.

7. Steinberg GR, Kemp BE. AMPK in Health and Disease. Physiol Rev. 2009;89(3):1025-78.

8. Carling D. AMPK signalling in health and disease. Curr Opin Cell Biol. 2017;45:31-37.

9. Minokoshi Y, Alquier T, Furukawa N, Kim YB, Lee A, Xue B, et al. AMP-kinase regulates food intake by responding to hormonal and nutrient signals in the hypothalamus. Nature. 2004;428(6982):569-74.

10. Bandyopadhyay GK, Yu JG, Ofrecio J, Olefsky JM. Increased malonyl-CoA levels in muscle from obese and type 2 diabetic subjects lead to decreased fatty acid oxidation and increased

۱۴. Acetyl COA carboxylase
۱۵. Upregulation

[Downloaded from jmciri.ir on 2024-04-19]

lipogenesis; thiazolidinedione treatment reverses these defects. Diabetes. 2006;55(8):2277-85.

11. Xu XJ, Gauthier MS, Hess DT, Apovian CM, Cacicedo JM, Gokce N, Farb M, Valentine RJ, Ruderman NB. Insulin sensitive and resistant obesity in humans: AMPK activity, oxidative stress, and depot-specific changes in gene expression in adipose tissue. J Lipid Res. 2012;53(4):792-801.

12. Szrejder M, Piwkowska A. AMPK signalling: Implications for podocyte biology in diabetic nephropathy. Biol Cell. 2019;111(5):109-120.

13. hazaveii MM, torkamam A. Exercise and treatment. Fanavaran. 2001.

14. Musi N, Hirshman MF, Nygren J, Svanfeldt M, Bavenholm P, Rooyackers O, Zhou G, Williamson JM, Ljunqvist O, Efendic S, Moller DE, Thorell A, Goodyear LJ. Metformin increases AMP-activated protein kinase activity in skeletal muscle of subjects with type 2 diabetes. Diabetes. 2002 Jul;51(7):2074-81.

15. Chen ZP, Stephens TJ, Murthy S, Canny BJ, Hargreaves M, Witters LA, Kemp BE, McConell GK. Effect of exercise intensity on skeletal muscle AMPK signaling in humans. Diabetes. 2003;52(9):2205-12.

16. McGee SL, Howlett KF, Starkie RL, Cameron-Smith D, Kemp BE, Hargreaves M. Exercise increases nuclear AMPK alpha2 in human skeletal muscle. Diabetes. 2003;52(4):926-8.

17. Takekoshi K, Fukuhara M, Quin Z, Nissato S, Isobe K, Kawakami Y, et al. Long-term exercise stimulates adenosine monophosphate-activated protein kinase activity and subunit expression in rat visceral adipose tissue and liver. Metabolism. 2006;55(8):1122-8.

18. Cao S, Li B, Yi X, Chang B, Zhu B, Lian Z, et al. Effects of exercise on AMPK signaling and downstream components to PI3K in rat with type 2 diabetes. PLoS One. 2012;7(12):e51709.

19. Rech A, Botton CE, Lopez P, Quincozes-Santos A, Umpierre D, Pinto RS. Effects of short-term resistance training on endothelial function and inflammation markers in elderly patients with type 2 diabetes: A randomized controlled trial. Exp Gerontol. 2019;118:19-25.

20. Garcia M, Bajpeyi S. Effects of Exercise Modes to Improve Insulin Sensitivity and Fat Oxidation in Obese and Patients with Type 2 Diabetes–a Meta-Analysis. InInternational Journal of Exercise Science: Conference Proceedings 2019; 2(11): 62.

21. Islam MS, Loots du T. Experimental rodent models of type 2 diabetes: a review. Methods Find Exp Clin Pharmacol. 2009;31(4):249-61.

22. Philippe AG, Py G, Favier FB, Sanchez AM, Bonnieu A, Busso T, Candau R. Modeling the responses to resistance training in an animal experiment study. Biomed Res Int. 2015;2015:914860.

23. Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol. 1979;47(6):1278-83.

24. Hunter RW, Foretz M, Bultot L, Fullerton MD, Deak M, Ross FA, et al. Mechanism of action of compound-13: an α1-selective small molecule activator of AMPK. Chem Biol. 2014;21(7):866-79.

25. Sriwijitkamol A, Coletta DK, Wajcberg E, Balbontin GB, Reyna SM, Barrientes J, et al. Effect of acute exercise on AMPK signaling in skeletal muscle of subjects with type 2 diabetes: a time-course and dose-response study. Diabetes. 2007;56(3):836-48.

[Downloaded from jmciri.ir on 2024-04-19]